

EXHIBIT A, PAGE 1

164

AN

→ Sacrifice de souris: effet adjuvant de chemothérapies
(GNCP-4, hRIP-3A, hTECK pepeteda) sur la réponse à β -Gal (placZ)
immunisations: injection de 50 μ l de PBS ou 50 μ l de
chemothérapie de PBS (=100ug), et 3h après 50 μ g (50 μ l) en solution
de placZ ou pCDNA3, endotoxine vax (LSEU)
Injections identiques à J0, J7, J14, J21. Prises de sang
pour sérum à J0, J14, J28.
J28: sacrifice de toutes les souris (groupes de 6 \pm 1 v/c, 65
en début de protocole). Prélèvement rate + ganglions poplité.
Mise en suspension, déposition B.R. pour rates.
numération

	ganglion poplite		rate	
	total $\times 10^{-6}$	/animal $\times 10^{-6}$	total $\times 10^{-6}$	/animal $\times 10^{-6}$
pcDNA3	9.66	1.23 1.61	265	44.17
3 + placZ	18.96	3.73 3.16	285 285	47.50
IP-3A + placZ	21.4	4.32 3.60	280	41.67
CP-4 + placZ	33.0	6.60 5.50	325	54.17
ECK + placZ	22.8	3.80	300	50.00

Mise en culture en milieu dense + 20ug β -2 + 1μ l BP-1
acc /ml: 5×10^6 splénocytes (24 puits / groupe) ou
 2×10^6 cellules de ganglion (toutes les cellules mises en culture)
à J3: rajouter 1ml de milieu + β -2 + BP-1

m/

EXHIBIT A, PAGE 2

AV

165

Vendredi

Pense boutons inj. Gekine (un²)

m6ck 1000 ug	m6ck 100 ug	m6ck 10 ug	PBS h6ck 1000 ug	h6ck 100 ug	h6ck 10 ug
201.06	254.47	0	240.53	0	0
	143.4	201.06		165.13	78.53
		254.47		70.88	213.82
		165.13			

Lundi

Pense boutons Gekine (un²)

m6ck 1000 ug	m6ck 100 ug	m6ck 10 ug	PBS	h6ck 1000 ug	h6ck 100 ug	h6ck 10 ug
201.06	188.63	0	254.47	—	0	145.14
	254.47	254.47			78.53	86.53
		213.82				201.06
		153.83				

→ ELISA pour effet adjuvant hNPC-9, hNPC-3A (pas dans
TCK car pas assez de plaques coattées) cf p164: groupes.
protocole dosage IgG, IgG1, IgG2a classique:

- coat 5 µg/ml, 50 µl in PBS o/n @ 4°C
- 2 lavages PBS.
- bloquer 2h @ 37°C
- échantillons peels, 1/40° puis 1/2 en 1/2, triplicates.
1h @ RT
- α IgG 1/1000° SAU-PAL 1h
- substrat 30'
- OD 405-480.

EXHIBIT A, PAGE 3

Sample	Dilution	Mean OD	SD OD	1 CV OD	OD	OD	OD
A2	1	0.019	0.003	19.01	0.019	0.028	0.019
A3	1	0.007	0.001	8.45	0.004	0.005	0.004
A3	1	0.001	0.001	205.00	-0.000	0.001	0.002
A4	1	-0.000	0.001	208.00	-0.001	0.001	-0.000
A5	1	-0.001	0.001	49.49	-0.001	-0.000	-0.001
A6	1	-0.002	0.003	105.03	-0.001	-0.000	-0.003
A7	1	-0.003	0.001	11.95	-0.003	-0.004	-0.004
B1	1	0.020	0.001	2.91	0.020	0.020	0.020
B2	1	0.008	0.002	15.50	0.010	0.006	0.006
B3	1	0.004	0.002	49.49	0.004	0.003	0.004
B4	1	0.002	0.001	26.65	0.002	0.003	0.002
B5	1	0.000	0.002	1248.59	-0.000	0.002	-0.001
B6	1	-0.001	0.003	215.71	-0.003	0.002	-0.002
B7	1	-0.004	0.001	15.06	-0.003	-0.004	-0.004
B7	1	-0.008	0.004	10.67	0.031	0.034	0.042
C1	1	0.011	0.001	5.41	0.020	0.021	0.020
C2	1	0.010	0.003	28.57	0.008	0.010	0.014
C4	1	0.006	0.001	25.38	0.001	0.006	0.005
C5	1	0.002	0.001	40.00	0.002	0.002	0.004
C6	1	-0.001	0.005	507.10	-0.004	-0.002	0.004
C7	1	-0.002	0.002	157.95	-0.002	-0.002	0.000
D1	1	0.044	0.004	8.79	0.044	0.044	0.040
D2	1	0.025	0.003	8.89	0.026	0.024	0.040
D3	1	0.027	-	-	0.031	-	-
D4	1	0.014	0.005	23.84	0.018	0.012	0.010
D5	1	0.011	0.005	45.07	0.016	0.010	0.006
D6	1	0.004	0.003	98.57	0.000	0.002	0.002
D7	1	0.002	0.002	83.32	0.004	0.001	0.003
D8	1	-0.001	0.004	721.11	0.002	-0.004	0.001

Sample	Dilution	Mass CO	CO CO	CO CO	CO	CO
A1	1	-0.001	0.003	274.74	-0.001	0.002
A2	1	-0.004	0.001	14.74	-0.004	-0.004
A3	1	-0.004	0.001	12.22	-0.004	-0.004
A4	1	-0.004	0.001	14.74	-0.004	-0.004
A5	1	-0.004	0.001	29.48	-0.003	-0.005
A6	1	-0.004	0.001	14.74	-0.003	-0.004
A7	1	-0.004	0.000	0.00	-0.006	-0.006
B1	1	-0.003	0.001	19.23	-0.004	-0.004
B2	1	-0.004	0.002	47.06	-0.004	-0.004
B3	1	-0.002	0.002	76.98	-0.001	-0.004
B4	1	-0.002	0.001	60.15	-0.003	-0.001
B5	1	-0.002	0.002	76.98	-0.008	-0.003
B6	1	-0.003	0.002	39.11	-0.004	-0.003
B7	1	-0.005	0.001	12.60	-0.004	-0.004
C1	1	0.002	0.001	13.03	0.003	0.011
C2	1	0.011	0.002	18.74	0.013	0.009
C3	1	0.005	0.003	53.29	0.004	0.004
C4	1	0.002	0.001	37.71	0.003	0.002
C5	1	-0.000	0.002	672.83	-0.001	-0.001
C6	1	-0.001	0.002	244.13	-0.004	-0.003
C7	1	-0.000	0.003	1285.64	-0.003	-0.002
D1	1	0.010	0.011	108.06	0.020	0.011
D2	1	0.010	0.003	29.61	0.004	0.012
D3	1	-0.002	-	-	-0.002	-
D4	1	0.000	0.004	2185.17	0.007	0.002
D5	1	0.004	0.000	275.97	0.011	0.007
D6	1	-0.001	0.000	603.99	0.006	-0.000
D7	1	-0.001	0.005	379.70	0.004	0.004
E7	1	-0.003	0.004	146.93	0.001	-0.004

Sample	millican	mm CD	SD CD	% CV CD	DD	DD	DD
A1	1	-0.005	0.004	68.68	-0.008	-0.001	-0.006
A2	1	-0.007	0.001	13.79	-0.007	-0.006	-0.008
A3	1	-0.007	0.002	23.20	-0.008	-0.006	-0.008
A4	1	-0.005	0.004	13.49	-0.004	-0.004	-0.006
A5	1	-0.006	0.001	9.76	-0.006	-0.005	-0.006
A6	1	-0.006	0.002	25.82	-0.006	-0.004	-0.007
A7	1	-0.008	0.002	19.30	-0.009	-0.008	-0.008
A8	1	-0.005	0.002	42.34	-0.007	-0.004	-0.003
A9	1	-0.007	0.005	36.49	-0.006	-0.006	-0.005
A10	1	-0.003	0.002	42.34	-0.004	-0.007	-0.003
A11	1	-0.005	0.002	45.62	-0.004	-0.003	-0.002
A12	1	-0.005	0.001	11.74	-0.005	-0.003	-0.004
A13	1	-0.003	0.002	79.18	-0.004	-0.004	-0.003
A14	1	-0.006	0.003	42.13	-0.003	-0.006	-0.006
A15	1	-0.002	0.003	192.95	-0.007	-0.001	0.002
A16	1	-0.001	0.004	440.89	-0.004	-0.003	-0.003
A17	1	-0.002	0.003	117.59	-0.004	-0.003	-0.001
A18	1	-0.001	0.001	82.38	-0.001	-0.000	-0.001
A19	1	-0.002	0.001	36.48	-0.002	-0.001	-0.001
A20	1	-0.003	0.007	215.38	-0.008	-0.006	0.003
A21	1	-0.003	0.005	175.94	-0.007	-0.004	0.003
<hr/>							
B1	1	0.006	0.003	116.63	0.014	0.005	-0.006
B2	1	0.005	0.004	67.34	0.008	0.001	
B3	1	0.011			0.011		
B4	1	-0.001	0.007	74.68	0.008	-0.002	-0.007
B5	1	0.006	0.006	25.22	0.012	0.008	-0.000
B6	1	-0.001	0.005	15.54	0.003	0.001	-0.006
B7	1	-0.002	0.002	156.86	0.002	-0.001	-0.002
B8	1	-0.003	0.003	98.97	-0.001	-0.006	-0.001

Sample	Dilution	Mean (SD)	SD (SD)	% CV (SD)	SD
11	1	0.047	0.002	4.34	0.028
12	1	0.071	0.003	23.59	0.013
13	1	0.004	0.001	15.75	0.009
14	1	0.001	0.001	86.00	0.001
15	1	-0.000	0.001	346.41	0.000
16	1	-0.002	0.001	37.74	-0.001
17	1	-0.006	0.000	0.03	-0.000
18	1	0.120	0.010	8.43	0.122
19	1	0.055	0.001	5.43	0.058
20	1	0.077	0.002	7.32	0.079
21	1	0.013	0.001	0.86	0.014
22	1	0.003	0.001	18.75	0.004
23	1	0.002	0.001	113.35	-0.001
24	1	-0.001	0.001	13.24	-0.003
25	1	0.032	0.007	23.07	0.054
26	1	0.028	0.001	2.25	0.026
27	1	0.011	0.004	28.94	0.011
28	1	0.007	0.001	13.64	0.007
29	1	0.002	0.001	63.78	0.000
30	1	0.001	0.001	606.22	-0.004
31	1	-0.000	0.004	1033.57	-0.001
32	1	0.044	0.003	11.44	0.045
33	1	0.028	0.001	3.98	0.026
34	1	0.017	-	-	0.017
35	1	0.013	0.005	37.31	0.016
36	1	0.012	0.007	37.07	0.013
37	1	0.003	0.003	157.48	0.008
38	1	0.003	0.002	86.00	0.005
39	1	0.000	0.003	1078.96	0.003

Sample	Refraction	Moisture %	Sp Gr	% Ev %	Oil		
1	1	0.002	0.002	170.49	0.001	0.005	0.001
2	1	-0.003	0.001	20.53	-0.002	-0.003	-0.001
3	1	-0.002	0.002	73.32	-0.003	-0.002	-0.000
4	1	-0.003	0.002	55.55	-0.004	-0.003	-0.001
5	1	-0.003	0.001	20.39	-0.003	-0.003	-0.002
6	1	-0.004	0.001	22.64	-0.004	-0.003	-0.003
7	1	-0.006	0.001	10.04	-0.006	-0.006	-0.005
8	1	0.120	0.001	0.90	0.138	0.138	0.132
9	1	0.071	0.004	6.10	0.076	0.065	0.060
10	1	0.039	0.003	8.19	0.038	0.034	0.034
11	1	0.012	0.000	5.04	0.019	0.013	0.019
12	1	0.010	0.002	28.87	0.010	0.012	0.008
13	1	0.003	0.003	17.76	0.004	0.004	0.003
14	1	-0.001	0.003	141.00	-0.002	-0.001	0.001
15	1	0.007	0.001	11.90	0.006	0.003	0.001
16	1	0.013	0.001	0.94	0.014	0.014	0.013
17	1	0.009	0.003	30.82	0.007	0.008	0.012
18	1	0.006	0.002	25.82	0.006	0.006	0.005
19	1	0.000	0.002	511.01	0.001	-0.001	0.002
20	1	0.002	0.004	152.43	-0.002	0.002	0.006
21	1	-0.000	0.001	1333.04	-0.002	-0.000	0.002
22	1	0.012	0.004	12.48	0.020	0.010	0.006
23	1	0.006	0.002	15.10	0.006	0.007	0.004
24	1	0.003	0.005	33.55	0.000	0.003	-0.003
25	1	0.007	0.006	84.29	0.003	0.009	0.001
26	1	0.000	0.004	1023.79	0.005	0.001	-0.004
27	1	0.001	0.003	144.40	0.005	0.001	-0.001
28	1	-0.002	0.004	68.20	0.001	-0.002	-0.001

Sample	Dilution	Mean OD	SD OD	Y OD	SD	OD
21	1	0.001	0.002	277.16	0.001	0.002
22	1	-0.004	0.002	51.15	-0.002	-0.004
23	1	-0.005	0.002	21.82	-0.006	-0.004
24	1	-0.006	0.001	9.24	-0.006	-0.007
25	1	-0.005	0.003	37.79	-0.004	-0.007
26	1	-0.005	0.000	8.60	-0.006	-0.005
27	1	-0.006	0.001	17.91	-0.007	-0.005
28	1	0.027	0.001	9.43	0.023	0.030
29	1	0.000	0.003	20.10	0.011	0.010
30	1	0.001	0.002	22.24	0.004	0.005
31	1	0.002	0.002	87.29	0.001	0.003
32	1	-0.001	0.003	202.33	0.001	-0.002
33	1	-0.000	0.001	692.83	0.000	0.000
34	1	-0.004	0.002	35.94	-0.005	-0.003
35	1	0.030	0.005	13.53	0.041	0.012
36	1	0.010	0.001	3.75	0.017	0.017
37	1	0.000	0.004	43.43	0.004	0.012
38	1	0.001	0.001	18.72	0.003	0.003
39	1	-0.001	0.002	166.64	-0.001	0.000
40	1	-0.001	0.004	140.89	-0.002	0.003
41	1	0.000	0.005	142.40	0.003	0.006
42	1	0.023	0.006	23.98	0.020	0.019
43	1	0.012	0.004	34.46	0.015	0.007
44	1	0.000	0.006	126.06	0.010	-0.001
45	1	0.000	0.000	42.84	0.012	0.009
46	1	0.001	0.003	266.47	0.004	-0.001
47	1	0.001	0.002	277.56	0.002	0.001
48	1	-0.001	0.000	585.73	0.001	-0.002

At: PCENAS

C: Wnir.3x + place

B: place 2 (1985)

$$D: \text{hncf4} + \text{placZ}$$

$A_{1,2,3}$ = dilutions 1/40, 1/80, 1/160...

EXHIBIT A, PAGE 4

16

Sample	Dilution	Mean OD	SD OD	% CV OD	OD
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	0.132	0.003	1.91	0.132
	1	0.058	0.001	1.73	0.058
	1	0.027	0.000	0.00	0.027
	1	0.013	0.001	9.18	0.010
	1	0.002	0.000	12.60	0.004
	1	-0.003	0.001	92.31	-0.001
	1	0.042	0.001	32.43	-0.004
	2	0.039	0.000	1.14	0.034
	2	0.039	0.000	4.98	0.019
	2	0.043	0.000	7.46	0.036
	2	0.025	0.000	7.18	0.028
	2	0.024	0.000	11.65	0.020
	2	0.024	0.000	12.99	0.022
	2	0.007	0.000	17.32	0.002
	2	0.011	0.000	1.20	0.007
	2	0.009	0.000	1.11	0.008
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	0.030	0.000	1.00	0.030
	1	0.002	0.000	0.28	0.002
	1	0.004	0.000	1.01	0.004
	1	0.133	0.003	4.00	0.124
	1	0.092	0.001	8.17	0.087
	1	2.053	0.005	0.23	2.048
	1	1.014	0.034	1.84	1.016
	1	1.419	0.087	0.67	1.421
	1	0.908	0.033	3.67	0.906
	1	0.536	0.017	3.24	0.546
	1	0.298	0.007	2.39	0.298
	1	0.157	0.004	2.89	0.161
	1	2.054	0.004	0.23	2.054
	1	1.023	0.033	1.84	1.023
	1	1.421	0.087	0.67	1.421
	1	0.906	0.033	3.67	0.906
	1	0.546	0.017	3.24	0.546

Sample	Dilution	Mean OD	SD OD	% CV OD	OD
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	0.137	0.008	5.68	0.129
	1	0.064	0.004	3.50	0.069
	1	0.031	0.001	1.07	0.032
	1	0.013	0.000	11.53	0.014
	1	0.008	0.001	18.48	0.008
	1	0.001	0.000	92.38	0.001
	1	-0.003	0.001	-18.72	-0.003
	1	0.043	0.013	7.14	0.076
	1	0.043	0.011	4.28	0.075
	1	0.041	0.004	2.56	0.077
	1	0.074	0.002	2.80	0.079
	1	0.017	0.002	5.47	0.019
	1	0.019	0.001	6.00	0.021
	1	0.008	0.001	24.44	0.008
	1	0.038	0.007	1.61	0.044
	1	0.025	0.003	3.27	0.025
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	0.139	0.005	3.69	0.134
	1	0.076	0.003	4.23	0.080
	1	0.039	0.002	7.89	0.038
	1	0.020	0.000	20.20	0.018
	1	0.010	0.000	36.13	0.008
	1	2.049	0.069	2.42	2.072
	1	2.015	0.006	0.27	2.010
	1	1.469	0.040	2.54	1.523
	1	0.958	0.041	4.31	0.943
	1	0.543	0.013	2.77	0.571
	1	0.314	0.017	5.41	0.331
	1	0.143	0.016	9.55	0.140
	1	2.064	0.004	0.23	2.064
	1	1.033	0.033	1.84	1.033
	1	1.421	0.087	0.67	1.421
	1	0.907	0.033	3.67	0.907

Sample	Dilution	Mean OD	SD OD	% CV OD	OD
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	0.043	0.003	6.18	0.041
	1	0.017	0.000	0.03	0.017
	1	0.007	0.000	31.31	0.006
	1	0.040	0.013	172.33	0.036
	1	0.022	0.008	178.54	0.021
	1	0.009	0.003	245.17	0.008
	1	0.001	0.010	1983.99	0.001
	1	2.046	0.040	1.98	2.053
	1	2.049	0.031	3.88	2.045
	1	1.075	0.010	3.95	1.073
	1	1.078	0.050	3.55	1.077
	1	0.070	0.001	1.27	0.069
	1	0.070	0.004	7.90	0.068
	1	0.044	0.004	9.09	0.043
	1	0.040	0.000	1.01	0.046
	1	2.048	0.008	3.08	2.053
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	2.048	0.007	3.51	2.049
	1	1.075	0.007	3.61	1.074
	1	0.070	0.007	1.77	0.068
	1	0.070	0.007	1.77	0.068
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
	1	0.040	0.007	1.77	0.038
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048
	1	2.048	0.007	0.09	2.048

EXHIBIT A, PAGE 5

